

**Zeitschrift:** Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie suisse des sciences médicales = Bollettino dell' Accademia svizzera delle scienze mediche

**Herausgeber:** Schweizerische Akademie der Medizinischen Wissenschaften

**Band:** 22 (1966)

**Artikel:** Über die Penetration von körperfremden Stoffen in den jungen Wirbeltierkeim

**Autor:** Keberle, H. / Schmid, K. / Faigle, J.W.

**DOI:** <https://doi.org/10.5169/seals-307643>

### **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

### **Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

### **Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 04.02.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

## **Über die Penetration von körperfremden Stoffen in den jungen Wirbeltierkeim**

H. KEBERLE, K. SCHMID, J. W. FAIGLE, H. FRITZ UND P. LOUSTALOT, Basel

Über die Penetrationsfähigkeit von körperfremden Verbindungen in den Wirbeltierkeim während seiner frühen Entwicklungsstadien scheint nur wenig bekannt zu sein. Im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über den Stoffwechsel und Wirkungsmechanismus von Thalidomid [1–3] hat es uns interessiert zu erfahren, ob und in welchem Ausmaß Thalidomid und seine Metaboliten während der kritischen Phase der Organogenese in den Embryo eindringen können. Zu diesem Zweck untersuchten wir die genannten Stoffe am trächtigen Kaninchen vor, während und nach der Implantation des Blastocysten. Wir fanden dabei, daß sich gewisse Verbindungen in ihrer Penetrationsfähigkeit stark voneinander unterscheiden. Außerdem stellten wir fest, daß sich das Penetrationsvermögen einer Verbindung während der verschiedenen Phasen der Keimentwicklung verändern kann.

Von den untersuchten Schranken schien die Membran des nicht-implantierten Blastocysten die größte Selektivität aufzuweisen. Um ihre Charakteristik besser kennenzulernen, haben wir ausgedehntere In-vitro-Studien am 6½-tägigen Blastocysten mit radioaktiv markierten organischen Verbindungen, die verschiedene physikalisch-chemische Eigenschaften besitzen, durchgeführt. Die Erkenntnisse aus diesen Studien sollen den Schwerpunkt des gegenwärtigen Referates bilden.

Vorgängig sollen jedoch die verschiedenen Faktoren, die im Penetrationsvorgang eine Rolle spielen, und die verschiedenen Schranken, die bei der Keimentwicklung in Frage kommen, in Erinnerung gerufen werden.

### *Penetration und embryonale Schranken*

Der Penetrationsvorgang hängt im wesentlichen von drei Faktoren ab:

1. von der Natur der zu passierenden Membran oder Schranke;
2. von den physikalisch-chemischen Eigenschaften des penetrierenden Stoffes und
3. vom Mechanismus des Transportvorganges.

Grundsätzlich kann man die Schranken in zwei Typen einteilen: in die metabolischen und die mechanischen. Unter einer metabolischen Schranke versteht man ein Gewebe oder Organ, das die Fähigkeit hat, eindringende Wirkstoffe metabolisch so zu verändern, daß diese nur als unwirksame Ver-

bindungen die Schranke passieren können. Beim Foetus kann die Placenta dank ihrer biochemischen Aktivität für manche Stoffe eine wirksame metabolische Barriere sein.

Als mechanische Schranken kann man die Membranen der Zellen oder geordnete Zellschichten betrachten. Es ist bemerkenswert, daß offenbar alle bekannten Zellmembranen nach dem gleichen Grundprinzip aufgebaut sind. Als Bausteine dienen vor allem Lipide, Proteine und in manchen Fällen auch Polysaccharide. Wegen dieser Gleichheit genügt es, wenn man die Eigenschaften der mechanischen Schranken am Beispiel der sogenannten Einheitsmembran der Zelle diskutiert. Die schematische Darstellung einer solchen Membran ist in Abb. 1 angegeben. Die Membran besteht in ihrem Kern aus zwei monomolekularen Lipidschichten. Die Moleküle, aus welchen die Lipidschichten aufgebaut sind, tragen einen langen Kohlenwasserstoffrest und eine polare Gruppe an einem Ende der Kette. Diese Moleküle sind in den zwei Lipidschichten in dichter Packung angeordnet, und zwar so, daß die polaren Gruppen nach außen und die lipophilen Kohlenwasserstoffreste nach innen orientiert sind. Die lipide Doppelschicht ist von außen von beiden Seiten durch ein hydratisiertes Proteingeflecht bedeckt, welches an den

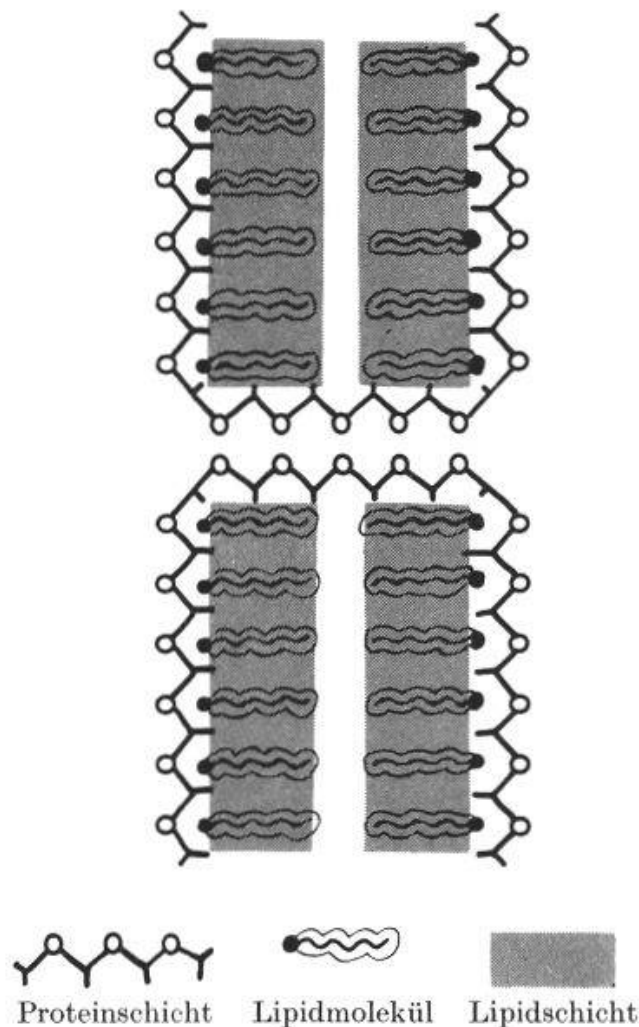


Abb. 1. Einheitsmembran (nach DANIELI).

polaren Gruppen der Lipoidmolekeln haftet. Die so zusammengesetzte Membran ist an verschiedenen Stellen von Poren durchlöchert [4].

Es sind prinzipiell vier Möglichkeiten bekannt, wie Stoffe die geschilderte Membran passieren können.

1. Diffusion durch die Lipidschicht,
2. Filtration durch die Poren,
3. aktiver Transport und
4. Pinocytose.

Diffusion durch die Lipidschicht kommt nur für Molekeln in Frage, die lipoide Eigenschaften besitzen.

Durch die Poren können dagegen sowohl lipophile als auch hydrophile Stoffe passieren. Die Zellmembran hat allerdings so kleine Poren, daß durch sie nur niedermolekulare Verbindungen, wie Wasser und Harnstoffe, ungehindert hindurchtreten können.

Gewisse physiologisch wichtige Verbindungen durchwandern die Zellmembranen mit großer Leichtigkeit ohne lipophil oder niedermolekular zu sein, indem sie einen speziellen Mechanismus benutzen, der auf Kosten von Zellenergie funktioniert und sich wahrscheinlich nur an bestimmten Stellen

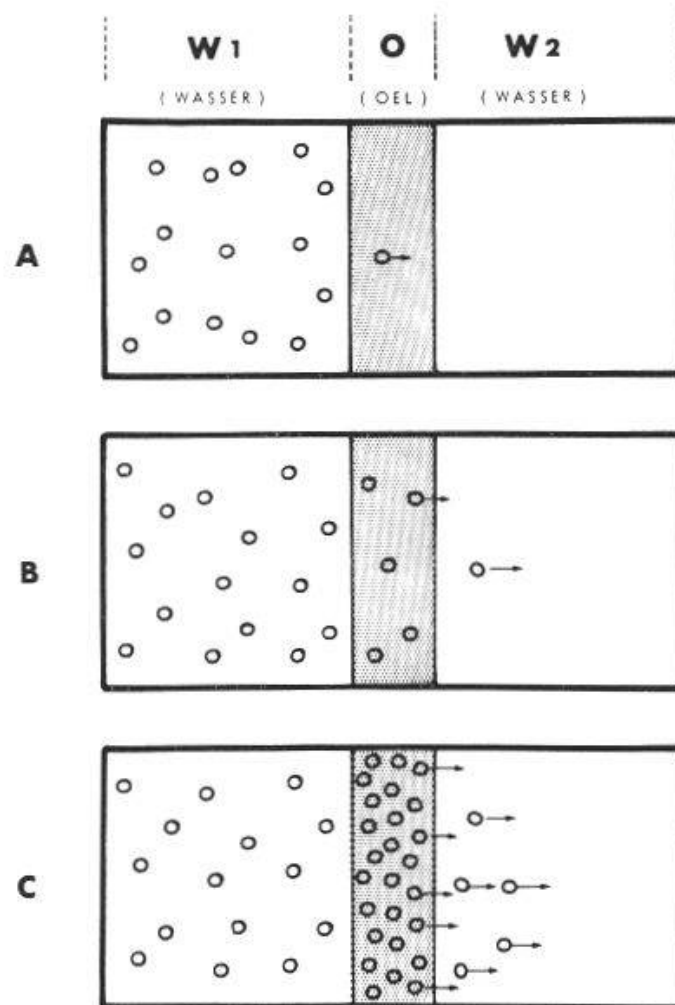


Abb. 2. Passive Diffusion durch eine Ölmembran.

der Membran abspielt. Dieser Mechanismus wird aktiver Transport genannt. Er ist meistens hoch spezifisch und kommt deshalb für körperfremde Verbindungen selten in Frage. Die letzte der genannten Transportmöglichkeiten, die Pinocytose, erlaubt das Eindringen von ganzen Partikeln in das Zellinnere. Auch dieser Mechanismus ist ein Spezialfall, der nur unter besonderen Umständen in Betracht gezogen werden muß.

Die Erfahrung hat gezeigt, daß die Penetration und Verteilung von körperfremden Stoffen im Organismus vor allem durch passive Diffusion geschieht. Die Geschwindigkeit der Diffusion wird dabei vom Lipidcharakter der penetrierenden Verbindung bestimmt, weil die meisten Membranen und Schranken im Organismus Lipidnatur besitzen. Abb. 2 illustriert den Diffusionsvorgang graphisch. Der hydrophile Stoff A, der sich zugunsten der wäßrigen Phase verteilt, kann nur langsam aus der wäßrigen Phase (W1) durch die Ölmembran (0) in die wäßrige Phase (W2) eindringen. Beim Stoff B, der sich gleichmäßig über beide Phasen verteilt, verläuft der Diffusionsvorgang rascher; am raschesten erscheint dieser bei der Substanz C, die eine höhere Affinität für die lipoide Phase aufweist. Daraus folgt, daß die Penetrationsgeschwindigkeit einer Verbindung durch lipoide Membranen um so rascher ist, je mehr ihr Verteilungskoeffizient zugunsten der Ölphase liegt.

Der die Geschwindigkeit bestimmende Schritt bei der Diffusion einer im wäßrigen Milieu befindlichen Molekel durch eine trennende Ölschicht ist der Eintritt der Molekeln in das Öl bzw. ihr Austritt aus der Ölphase. Aus diesem Grund wird die Penetrationsgeschwindigkeit einer Verbindung im Organismus nicht nur durch ihren Lipidcharakter, sondern auch durch die Anzahl lipoider Barrieren bestimmt. Will man deshalb das Penetrationsvermögen körperfremder Stoffe im Keim untersuchen, so muß man sich ver-

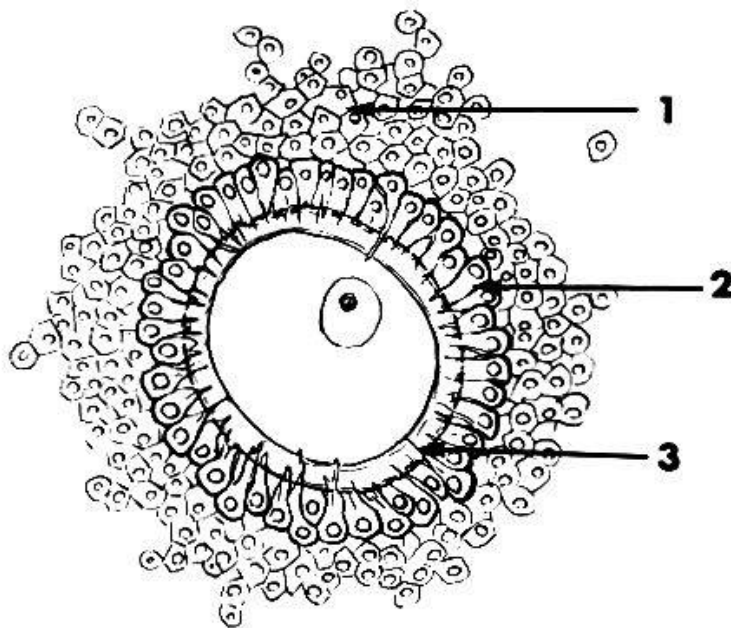


Abb. 3. Eizelle nach dem Follikelsprung. – 1 = Cumulus oophorus, 2 = Corona radiata, 3 = Zona pellucida

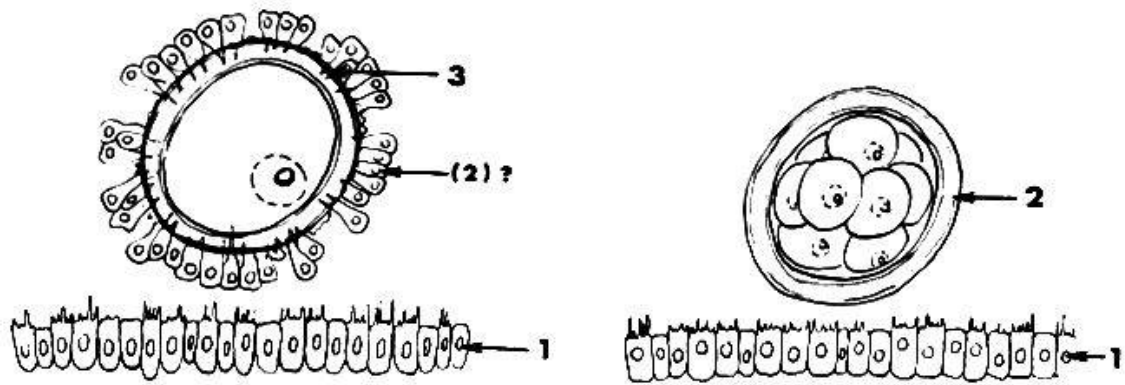


Abb. 4. Links: Spermovium. 1 = Epithel der Tuba uterina, (2) = Corona radiata 3 = Zona pellucida. — Rechts: Morula. 1 = Epithel der Tuba uterina, 2 = Zona pellucida.

gegenwärtigen, daß die Barrieren, die den Keim während seiner Entwicklung vom mütterlichen Blut trennen, sich nicht nur strukturell, sondern auch zahlenmäßig ständig verändern. So wird z. B. die reife Eizelle, wie Abb. 3 schematisch darstellt, kurz nach dem Follikelsprung durch drei Schichten von der Außenwelt geschützt:

1. durch den Cumulus oophorus, einen Zellhaufen, der aus dem Granulosaepithel stammt,
2. durch die geordneten Epithelzellen der Corona radiata und
3. durch die mucopolysaccharidhaltige Membran der Zona pellucida.

Beim Spermovium (Abb. 4, links), welches sich im Eileiter befindet, tritt eine zusätzliche Barriere in Funktion, nämlich das Epithel der Tube. Dafür fällt der Cumulus oophorus als Schutzschicht ganz und die Corona radiata teilweise aus. Der Keim verliert während der Furchung die Zellen der Corona radiata. Im Zustand der Morula wird er nur vom Tubenepithel und von der Zona pellucida geschützt (Abb. 4, rechts).

Im Blastocystenstadium (Abb. 5) befindet sich der Keim bereits in der Gebärmutterhöhle. Die Rolle des Tubenepithels wird von der Epithelschicht des Endometriums übernommen. Die Wandstärke der Zona pellucida

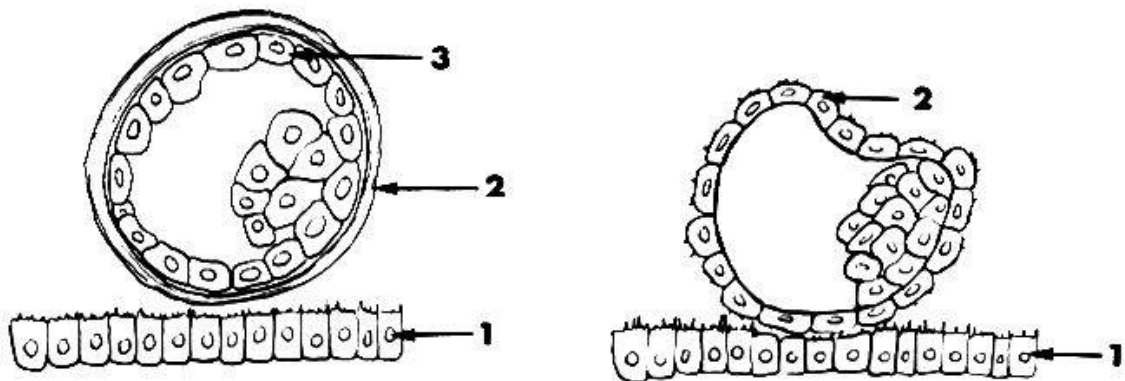


Abb. 5. Blastocysten kurz vor der Implantation. — Links: 1 = Epithel des Endometriums, 2 = Zona pellucida, 3 = Wandung des Trophoblasten. — Rechts: 1 = Epithel des Endometriums, 2 = Wandung des Trophoblasten.



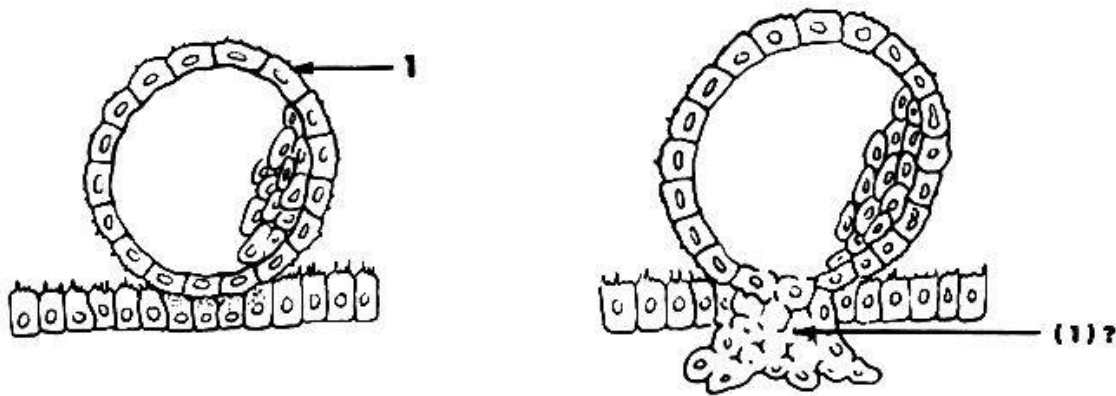


Abb. 6. Blastocysten während der Implantation. – 1 = Wandung des Trophoblasten.  
(1) = Trophoblastenzellensyncytien.

hat auf Grund eines Auflösungsprozesses abgenommen, dafür wird zum Schutz des Embryoblasten eine neue Zellschicht aufgebaut – die Wandung des Trophoblasten. Kurz vor der Implantation ist die Zona pellucida als Barriere völlig zugrunde gegangen, so daß nur das Endometriumepithel und der Trophoblast als Schranken übrigbleiben.

Zu Beginn der Nidation nehmen Trophoblastenzellen Kontakt mit dem Endometrium. Die Epithelzellen, die dem Trophoblast benachbart sind, werden durch dessen fermentative Wirkung angedaut und aufgebrochen, wodurch das Endometriumepithel als Barriere wegfällt (Abb. 6, links).

Kurz darauf verlieren auch die an der Oberfläche liegenden Zellen des Implantationstrophoblasten ihre Trennwände und werden so zu einem Syncytium. In diesem Moment wird der innigste Kontakt zwischen dem Keimgewebe und dem mütterlichen Blut etabliert. Die Sprossen des Syncytiums baden direkt im mütterlichen Blut (Abb. 6, rechts).

Es ist fraglich, ob in diesem Zeitpunkt überhaupt eine Barriere zwischen Keim und Mutter existiert. Die Forschergruppen um BRAMBEL [5], LUTWAK-MANN [6] und GOTSCHESKI [7] konnten nachweisen, daß in diesem, allerdings kurzen Zeitabschnitt, nicht nur die niedermolekularen Stoff-

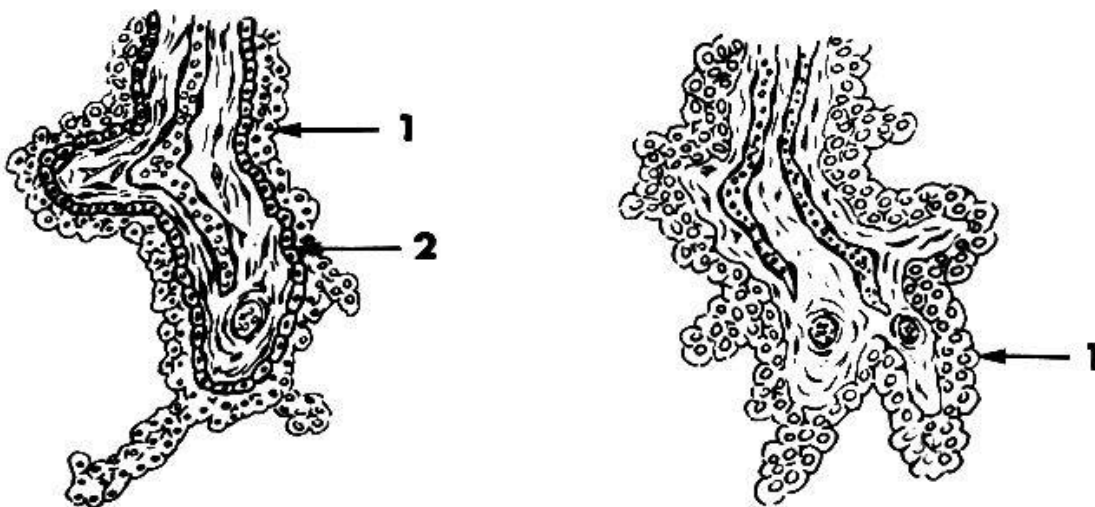


Abb. 7. Chorionzotten. – 1 = Syncytium, 2 = Cytotrophoblasten.

wechselprodukte, die sich im mütterlichen Plasma befinden, sondern auch die Plasmaproteine und sogar Viren und Bakterien in die Fruchtblasenflüssigkeit des Kaninchenembryos eindringen können.

Mit der Vergrößerung des Trophoblasten beginnt der Ausbau einer neuen Schranke, der Placenta. Unterhalb des Syncytiums der Primärzotten sowie der frühen Chorionzotten hat sich als neue Barriere die zusammenhängende Zellschicht des Cytotrophoblasten (Langhaus-Schicht) ausgebildet (Abb. 7, links). In den späteren Stadien der Schwangerschaft verschwindet allerdings der Cytotrophoblast wieder, so daß die Zotten nur vom Syncytium bekleidet bleiben (Abb. 7, rechts).

Die Vielfalt der Embryoschranken, die während der Keimentwicklung errichtet und wieder entfernt werden, zeigt, daß man die Penetrationsfähigkeit einer Substanz in den Embryo nur dann beurteilen kann, wenn man die Penetration zu verschiedenen Zeiten der Embryogenese studiert.

### *Eigene Untersuchungen*

Unsere Studien am trächtigen Kaninchen wurden am 6., 8. und 12. Tag nach dem Deckungsakt, d. h. kurz vor, während und nach der Implantation der Blastocysten durchgeführt. Diese Zeiten wurden gewählt, weil sie in einen Abschnitt fallen, in welchem große Veränderungen der Embryoschranken stattfinden. Zudem liegen sie in der kritischen Phase der Organogenese.

In den Abb. 8, 9 und 10 wird gezeigt, wie der Kaninchenkeim zu den genannten Zeiten jeweils aussieht. In Abb. 8 ist ein Kaninchenuterus am

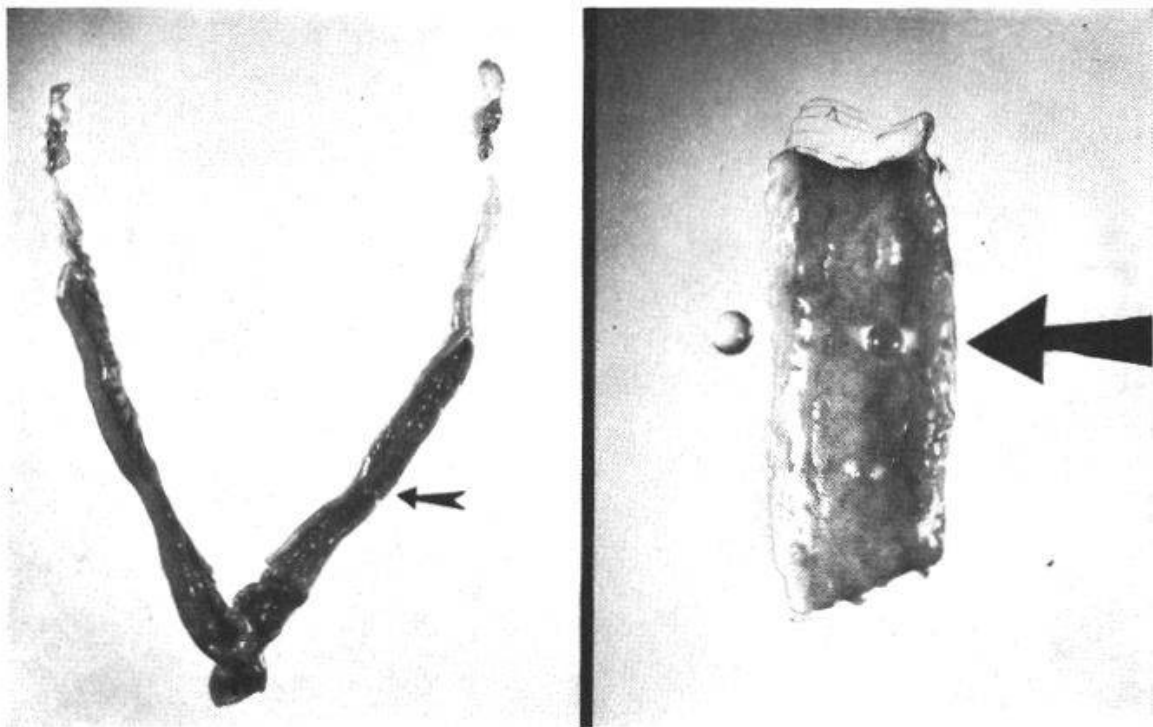


Abb. 8. Kaninchenuterus am 6. Schwangerschaftstag (s. Text).



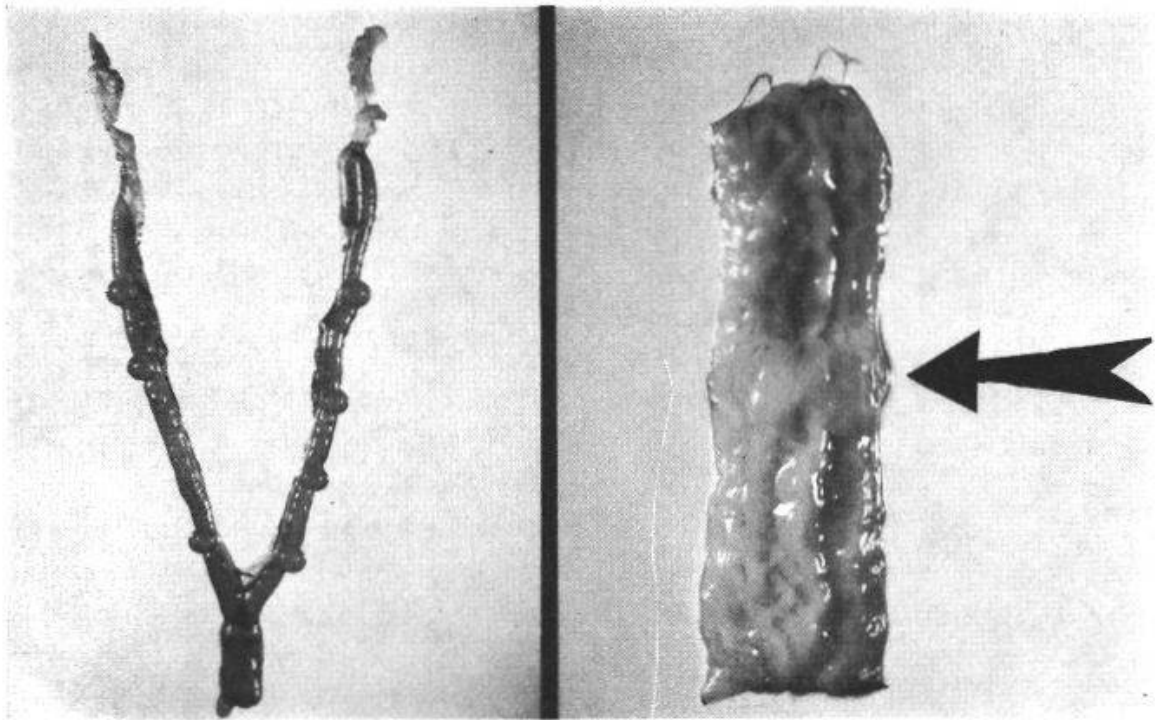


Abb. 9. Kaninchenuterus am 8. Schwangerschaftstag (s. Text).

6. Schwangerschaftstag abgebildet. Das rechte Uterushorn ist aufgeschnitten. Die noch freiliegenden Blastocysten, die wie kleine Glasperlen aussehen, sind gleichmäßig über die ganze Länge des Hornes verteilt. In der Vergrößerung rechts kann man einen Blastocysten, der auf dem Endometrium liegt, und einen anderen, der herauspräpariert wurde, betrachten. In Abb. 9

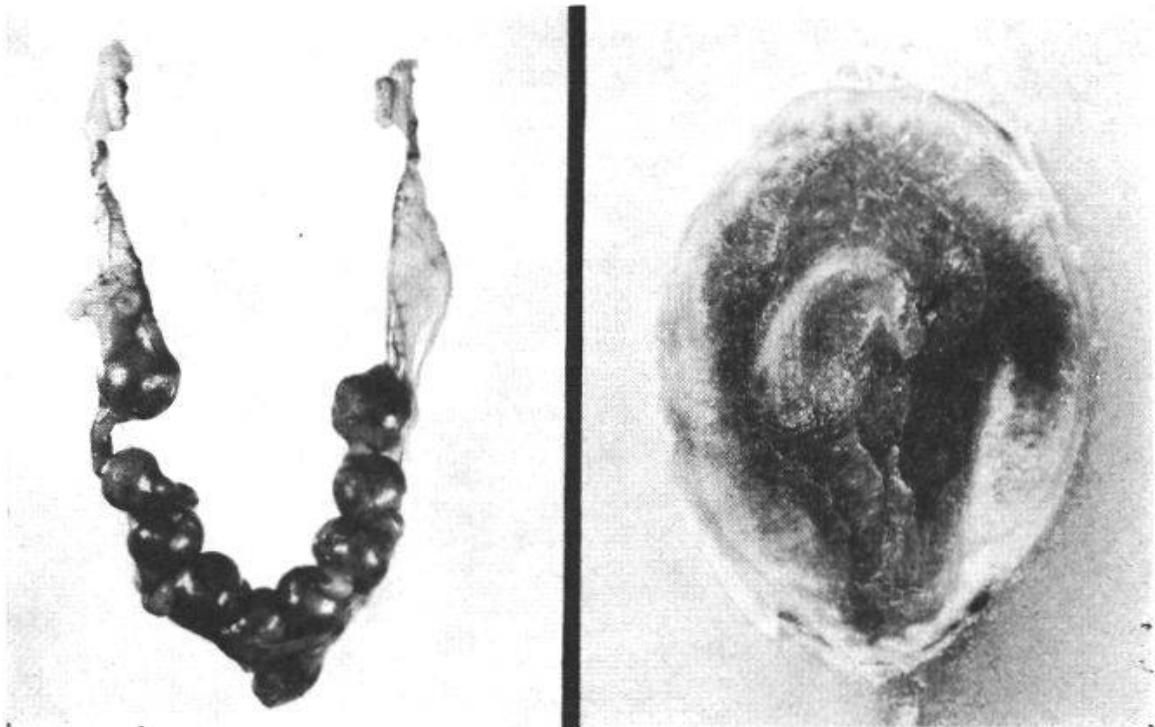


Abb. 10. Kaninchenuterus am 12. Schwangerschaftstag (s. Text).

sieht man die Verhältnisse am 8. Tage der Schwangerschaft. Die Fruchtblasen sind bereits mit dem Endometrium verwachsen und mit Serum vollgesehen. Auch hier ist das rechte Horn aufgeschnitten. Die Flüssigkeit der Fruchtblasen ist dabei ausgelaufen. Der Pfeil in der Vergrößerung zeigt auf den Implantationsort des Blastocysten. Am 12. Schwangerschaftstag (Abb. 10) ist die Keimentwicklung stark vorangegangen. Im vergrößerten Gefrierschnitt rechts kann man den Embryo, den kindlichen und den mütterlichen Anteil der Placenta erkennen.

Die ersten Verbindungen, deren Penetration wir untersucht haben, waren Thalidomid und zwei Thalidomidmetaboliten. Alle drei Verbindungen waren radioaktiv markiert. Das Muttertier erhielt jeweils eine Dosis von 100 mg/kg. Thalidomid wurde oral, die Metaboliten dagegen wegen ihrer schlechten Resorption parenteral verabreicht. Die Tiere, die Thalidomid erhielten, wurden nach 4 Std. und jene, die die Metaboliten bekamen, nach 1 Std. entblutet und sezirt. Plasma-, Organ- und Gewebeproben wurden entnommen und sofort radiochemisch analysiert. Die wichtigsten Analysenresultate sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die im Embryo gefundenen Konzentrationen sind hier jeweils in Relation zur mütterlichen Plasmakonzentration ausgedrückt.

Betrachten wir zunächst die Analysenergebnisse, die mit den beiden Metaboliten am 6. Tag der Schwangerschaft erzielt wurden. Das Endometriumsekret erreichte mit 0,2 bzw. 0,3 nur einen Bruchteil der entsprechenden Plasmakonzentration. Hier macht sich offenbar das Endometriumepithel als Barriere bemerkbar. In der Blastocystenflüssigkeit wurde praktisch keine Radioaktivität gefunden, woraus man schließen muß, daß die Blastocystenmembran für die Metaboliten undurchlässig ist. Am 8. Schwangerschaftstag, d. h. während der Implantation der Blastocysten, ändern sich

Tabelle 1  
Konzentration von Thalidomid und seinen Metaboliten in Relation zur entsprechenden Plasmakonzentration = 1

Untersuchte Verbindung	6. Tag*		8. Tag	12. Tag
	Endometriumsekretion	Blastocystenflüssigkeit	Flüssigkeit der Fruchtblase	Allantoisflüssigkeit
<i>Metabolit IV</i> (o-Carboxybenzoylglutaminsäureimid)	0,2	0,04	0,6	0,2
<i>Metabolit VI</i> (Phtalylglutaminsäure)	0,3	0,02	0,7	0,1
<i>Thalidomid</i>	>0,5	>0,5	>0,3	>0,5

\* der Schwangerschaft.

die Penetrationsverhältnisse für die Metaboliten drastisch. Beide Verbindungen dringen jetzt in relativ hoher Konzentration in die Flüssigkeit der Fruchtblase ein. Hier scheinen keine Barrieren mehr wirksam zu sein. Am 12. Tag ändert sich die Situation erneut. Die Konzentration in der embryonalen Flüssigkeit ist wiederum nur ein Bruchteil der entsprechenden Plasmakonzentration. Dies zeigt, daß die bereits ausgebildete fötale Placenta ihre Rolle als Barriere aufgenommen hat. Betrachtet man die Konzentration, die beim Thalidomid gemessen wurden, so fällt auf, daß für diesen Stoff offensichtlich auch am 6. und 12. Tag keine Barrieren existieren. Zieht man nun in Betracht, daß im Unterschied zu den Metaboliten, die stark hydrophile Stoffe sind, Thalidomid ausgesprochen lipophile Eigenschaften hat, so kann aus dem Versuchsergebnis geschlossen werden, daß sich das Endometrium-epithel, die Blastocystenmembran und die Placenta als lipode Schranken benehmen.

In früheren Arbeiten haben wir festgestellt, daß Thalidomid im physiologischen pH-Bereich sehr instabil ist und spontan durch Hydrolyse in zahlreiche Metaboliten zerfällt.

Die Struktur dieser Metaboliten ist in Abb. 11 angegeben. Das Formelschema zeigt, daß Thalidomid zunächst in 3 Monocarbonsäuren zerfällt, aus welchen dann Di- und Tricarbonsäuren entstehen.

Die leichte Penetrationsfähigkeit von Thalidomid, seine Unstabilität im physiologischen Milieu und das geringe Penetrationsvermögen der entstandenen Metaboliten kann man für ein Kumulationsphänomen, das wir beobachtet haben, verantwortlich machen. Analysiert man nämlich den 8tägigen Keim nicht 4, sondern 24 Std. nach der Thalidomidgabe, so findet man in der Flüssigkeit der Fruchtblase eine Konzentration an radioaktiven Stoff-

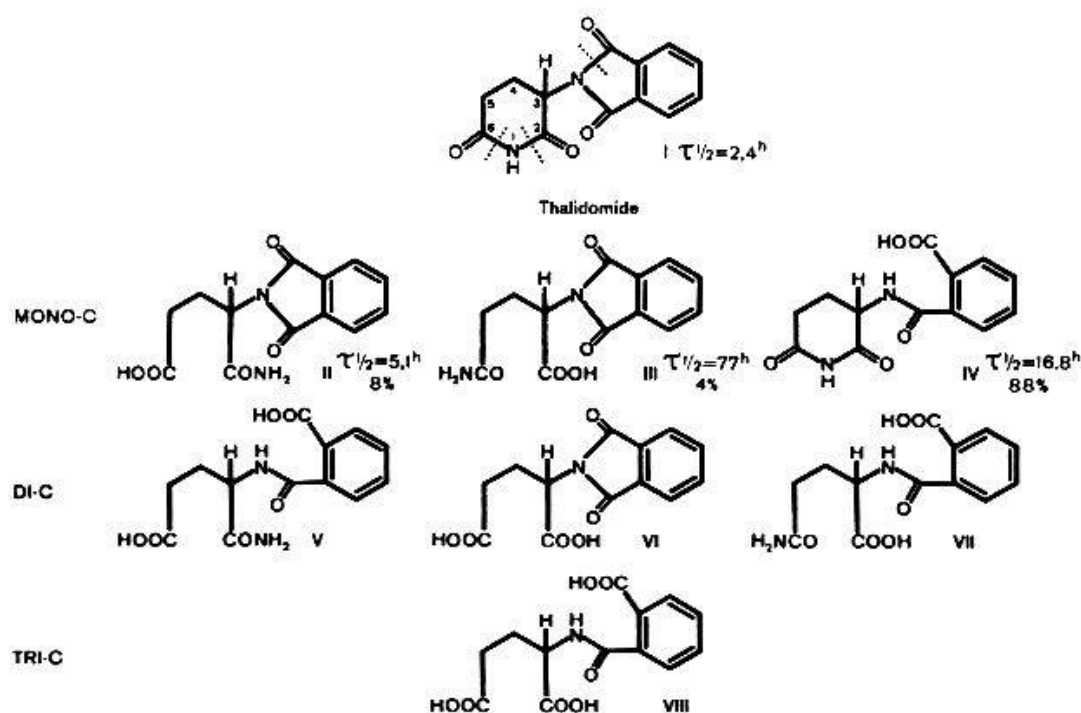


Abb. 11. Struktur von Thalidomid und seiner Metaboliten.

fen, die 5mal höher ist als die Radioaktivität im Plasma zur gleichen Zeit. Die Kumulation an Radioaktivität im Keim ließe sich folgendermaßen erklären: Das im Plasma befindliche Thalidomid kann dank seiner Lipophilie rasch durch die Membran der Fruchtblase in den Embryo eindringen oder ihn in der umgekehrten Richtung wieder verlassen.

Auf diese Weise wird im Embryo stets die gleiche Thalidomidkonzentration aufrechterhalten wie im Blutplasma. Wegen seiner Unstabilität wird dabei das Thalidomid innerhalb sowie außerhalb des Embryos dem Zerfallsprozeß unterworfen sein. Während die Metaboliten auf Grund ihrer sehr guten renalen Clearance aus dem Blut schnell eliminiert werden können, sind die Metaboliten, die innerhalb des Embryos entstehen, nicht in der Lage, diesen rasch zu verlassen, weil sie die Barriere nicht leicht passieren können. Dieser Prozeß hat zur Folge, daß die Radioaktivität im Embryo im Vergleich zum Plasmawert mit der Zeit zunimmt. Wenn diese Erklärung stimmt, muß sich in der embryonalen Flüssigkeit im Vergleich zum Plasma die Zusammensetzung der radioaktiven Stoffe zugunsten der Metaboliten verschieben. Eine papierelektrophoretische Analyse von Plasma und Embryonalflüssigkeit zeigte, daß die Erwartung in der Tat zutrifft.

Auf Grund des vorgeschlagenen Mechanismus dürfte sich keine Kumulation in der Embryonalflüssigkeit bemerkbar machen, wenn die Metaboliten das Milieu außerhalb der embryonalen Schranke nicht verlassen können. Dies wäre z. B. der Fall, wenn man den Embryo in vitro in einer Thalidomidlösung inkubieren würde. Unter der Annahme, daß der Zerfall von Thalidomid im Embryo und in der Inkubationslösung gleich rasch verläuft, wird die Zusammensetzung außen und innen und somit auch die entsprechende Radioaktivität stets gleich bleiben. Wir inkubierten 6½-tägige Blastocysten während 2 Std. in einer thalidomidhaltigen, physiologischen Pufferlösung bei 37° C und analysierten den Blastocysten radiometrisch. Wir stellten dabei fest, daß die Konzentration an radioaktiven Stoffen um den Faktor 3,4 höher war als in der Inkubationslösung. Für diese Kumulation muß ein neuer Faktor verantwortlich sein. Die festgestellte Anreicherung im Blastocysten könnte man erklären, wenn man annehmen würde, daß der Zerfall von Thalidomid im Blastocysten rascher vor sich geht als in der Inkubationslösung. Dadurch würde sich ein Gradient ausbilden, der ein stetes Einströmen von Thalidomid aus der Inkubationslösung in Richtung Embryo zur Folge hätte. Thalidomid würde im Blastocysten rascher zerfallen, entweder wenn zum Spontanzerfall ein enzymatisch bedingter hinzukommt, oder wenn das pH im Blastocysten höher ist als in der Inkubationslösung. Die Stabilität von Thalidomid nimmt nämlich mit steigendem pH rapid ab. Thalidomid zerfällt z. B. bei pH 8 fünfmal rascher als bei pH 7,4. Wenn der raschere Zerfall von Thalidomid innerhalb des Blastocysten tatsächlich die Ursache der Anreicherung wäre, so müsste die Zunahme der Radioaktivität auch hier auf einer relativen Zunahme der Metaboliten beruhen. Die papierchromatographische Analyse der Blastocystenflüssigkeit und der dazugehörigen Inkubationslösung zeigte das erwartete Bild (Abb. 12).



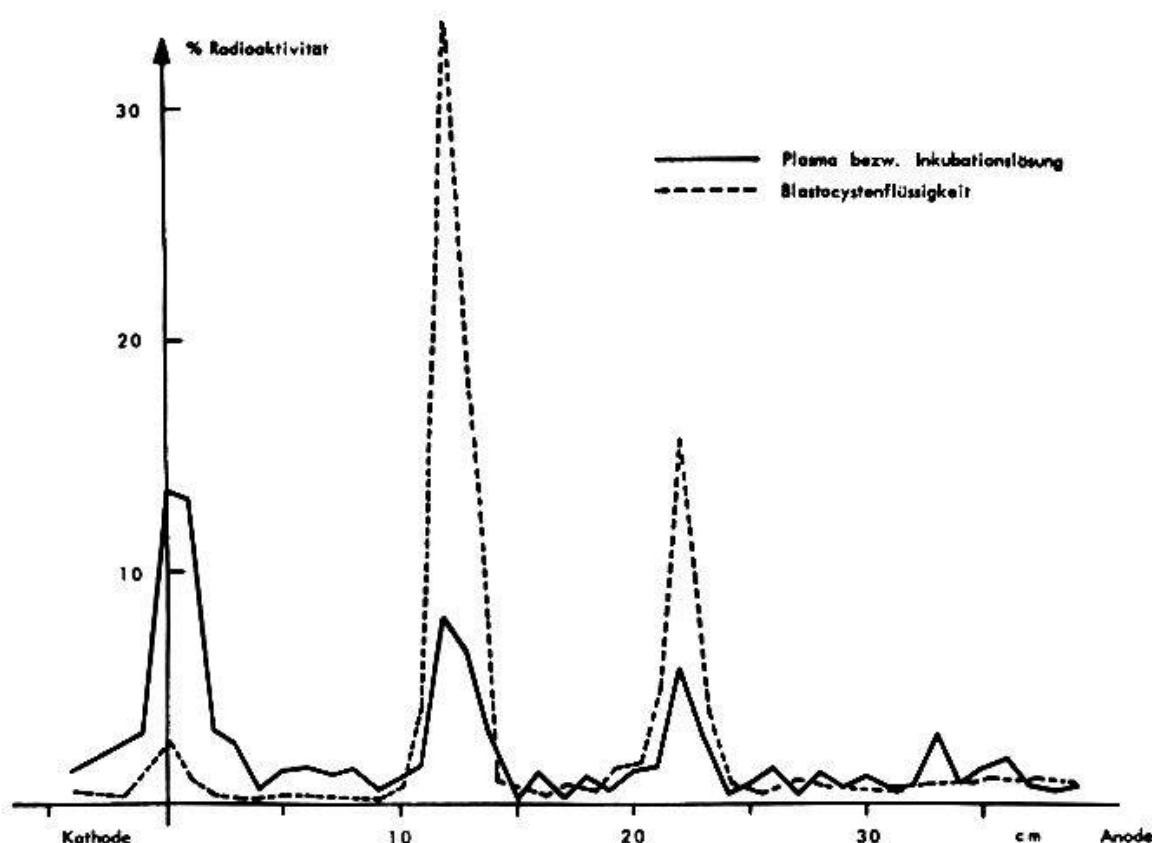


Abb. 12.

Das Verhältnis von Thalidomid (Maximum beim Startpunkt) zu den Hydrolysenprodukten (Maxima bei 12 und 22 cm) ist in der Blastocystenflüssigkeit viel stärker zugunsten der Hydrolysenprodukte verschoben als bei der entsprechenden Inkubationslösung.

Eine andere Möglichkeit zur Überprüfung, ob der diskutierte Anreicherungsmechanismus zutrifft, besteht darin, Thalidomidanaloga mit unterschiedlicher Stabilität zu untersuchen. Verbindungen, die ähnlich rasch wie Thalidomid penetrieren, aber eine höhere Stabilität aufweisen, müßten eine geringere Anreicherungstendenz haben.

In Abb. 13 sind die Ergebnisse der Inkubationsstudien mit einigen Strukturanaloga von Thalidomid zusammengestellt. Die erste Zahlenkolonne zeigt als Ausdruck der Lipophilität den Gehalt in der Chloroformphase in % nach der Verteilung der Verbindung zwischen gleichen Volumina Chloroform und Wasser. In der zweiten und dritten Kolonne sind die Stabilitäten bei pH 7,4 und 8,5 aufgeführt, in der letzten Kolonne die Anreicherung an Radioaktivität im Blastocysten nach 2stündiger Inkubation. Die Bedeutung der Stabilität für die Anreicherung ergibt sich aus dem Vergleich der Werte der zweiten und letzten Zahlenkolonne. Die Anreicherung im Blastocysten nimmt, wie zu erwarten wäre, mit zunehmender Stabilität der Verbindung ab.

Diese Befunde sind ein weiterer Hinweis dafür, daß der raschere Zerfall der Verbindungen innerhalb des Blastocysten nicht auf enzymatischen Prozessen, sondern wahrscheinlich auf einem erhöhten pH der Blastocystenflüssigkeit beruht.



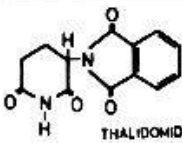
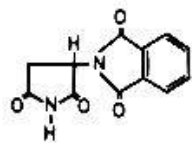
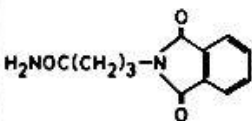
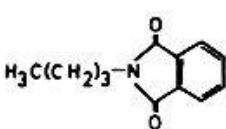
VERBINDUNG	% IN CHLORO FORM	$\alpha$ in h bei pH 7,5	$\alpha$ in h bei pH 8,5	ANR. FAKTOR
 THALIDOMID	97	21	0,4	3,4
	54	~4	0,6	1,5
 $\text{H}_2\text{NOC}(\text{CH}_2)_3\text{-N}$	86	7,5	1	1,1
 $\text{H}_3\text{C}(\text{CH}_2)_3\text{-N}$	99	10,9	2	0,9

Abb. 13. Phtalimide (s. Text).

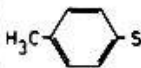
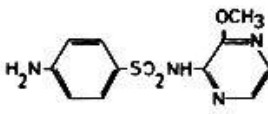
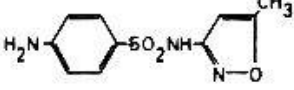
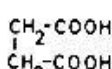

VERBINDUNG	% IN CHLORO-FORM	ANR. FAKTOR
 $\text{H}_3\text{C}$	79	8,3
 $\text{H}_2\text{N}$	52	3,5
 $\text{H}_2\text{N}$	7	1,2
 $\text{CH}_2\text{-COOH}$ $\text{CH}_2\text{-COOH}$	0	0,3
 $\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CHCH}_2\text{COOH}$	0	0,4

Abb. 14. Säuren (s. Text).

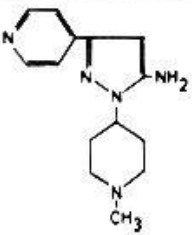
VERBINDUNG	% IN CHLOROFORM	ANREICHERUNGS FAKTOR
	30	04
DEFERRIOXAMIN	24	02
FERRIOXAMIN	04	01

Abb. 15. Basen (s. Text).

Wenn diese Annahme stimmen würde, müßte das Anreicherungsphänomen nicht nur bei instabilen Verbindungen beobachtet werden, sondern auch bei Säuren, die genügend lipophil sind, um durch die Blastocystenwand rasch penetrieren zu können. Eine Reihe von Säuren, die bei pH 7,4 verschiedene Lipophilität aufwiesen, wurde untersucht. Das Ergebnis ist in Abb. 14 aufgeführt. Die ersten drei Säuren, die gewisse Lipophilität besitzen, zeigen eine Anreicherung im Blastocysten, die um so größer ist, je lipophiler die Säure. Beim Tolbutamid wird eine Anreicherung an Radioaktivität festgestellt, die den Plasmawert um den Faktor 8,3 übertrifft. Die hydrophilen Säuren zeigten im untersuchten Zeitintervall, wahrscheinlich wegen ihrer langsamen Penetrationsgeschwindigkeit, noch keine Anreicherung. Nach LUTWAK-MANN [6] reagiert die Flüssigkeit innerhalb der Blastocystenhöhle nahezu neutral, besitzt aber eine große Bicarbonatreserve. Es wäre möglich, daß die Anreicherung der lipophilen Säuren im Blastocysten nicht nur auf einem höheren pH der Blastocystenflüssigkeit, sondern auch auf der Verdrängung der Kohlensäure aus dem Bicarbonat gefolgt von einem Entweichen des freigesetzten  $\text{CO}_2$  beruht.

Keine Anreicherung zeigten die bis jetzt untersuchten Basen (Abb. 15), auch jene nicht, die eine gewisse Lipophilität aufweisen. Tritium-Wasser und lipophile Neutralstoffe zeigen (Abb. 16) nach 2stündiger Inkubation eine nahezu gleichmäßige Verteilung über Inkubationslösung und Blastocysten. Bei der hydrophilen Verbindung Acetylferrioxamin wird die Gleichverteilung offenbar in 2 Std. nicht erreicht.

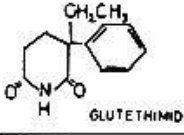
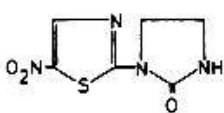
VERBINDUNG	% IN CHLOROFORM	ANREICHERUNGS FAKTOR
TRITIUM WASSER	0	0,9
 GLUTETHIMID	99	0,8
	90	0,9
ACETYLFERRIOXAMIN	2	0,5

Abb. 16. Neutralstoffe (s. Text).

In Tabelle 2 sind zum Vergleich die Anreicherungsfaktoren je eines Vertreters aus der sauren, neutralen und basischen Untersuchungsreihe zusammengestellt. Man kann daraus entnehmen, daß der basische Stoff, obwohl er die höchste Lipophilie aufweist, am langsamsten in den Embryo penetriert ist. Man weiß, daß beim Blastocysten die Zona pellucida neben einer lipoiden Schicht auch Mucopolysaccharidschichten enthält, in den sauren Gruppen vorkommen. Es wäre möglich, daß die relativ langsame Penetration der basischen Stoffe im nicht-implantierten Blastocysten mit dem sauren Charakter der Membran zusammenhängt.

Die geschilderten Studien zeigen, daß es möglich ist, mit Hilfe der Penetrationsfähigkeit von Verbindungen, die bekannte physikalisch-chemische Eigenschaften besitzen, wertvolle Informationen über den Charakter der embryonalen Schranken zu erhalten.

Tabelle 2  
Vergleich von Säuren, Basen und Neutralstoffen

Verbindung	% in Chloroform	Anreicherungs- faktor
Sauer	7	1,2
Neutral	2	0,5
Basisch	30	0,4

### *Zusammenfassung*

Auf Grund unserer Befunde haben wir folgende Hinweise auf den Charakter der embryonalen Schranken erhalten:

1. Die mechanischen Schranken, die den Embryo vor dem Eindringen körperfremder Stoffe schützen, haben Lipidcharakter.

2. Die Wirksamkeit der Schranken ändert sich im Laufe der Keimentwicklung und ist vor der Implantation des Keimes optimal.

3. Im Zeitpunkt der Implantation fallen sämtliche Barrieren weg, so daß jede körperfremde Verbindung in den Embryo eindringen kann.

4. Neutrale lipophile Stoffe, die im physiologischen Milieu unstabil sind und in polare Produkte zerfallen, sind durch ihren Zerfall nach Passage der Embryonalschranke in der Lage, in den Embryo hydrophile Verbindungen einzuschmuggeln, die als solche nicht in der Lage wären, in den Embryo einzudringen.

5. Lipophile Säuren zeigen die Tendenz, sich in der Flüssigkeit der Blastocystenhöhle anzureichern.

6. Die saure Mucopolysaccharidmembran des Blastocysten wirkt sich möglicherweise auf die Penetration von Basen bremsend aus.

### *Résumé*

Nos expériences nous ont fourni les indications suivantes sur les caractéristiques des barrières embryonnaires:

1. La barrière qui protège l'embryon contre l'introduction de substances étrangères à son organisme est de nature lipidique.

2. L'efficacité de cette barrière protectrice se modifie au cours du développement de l'embryon, elle est optimale avant l'implantation de l'œuf.

3. Au moment de l'implantation, toutes les barrières deviennent inactives, si bien que n'importe quelle substance étrangère peut pénétrer dans l'embryon.

4. Des substances lipophiles neutres, qui sont instables en milieu physiologique et subissent une scission polaire peuvent, par leur scission après le passage de la barrière embryonnaire, faire entrer en contrebande dans l'intérieur de l'embryon des substances hydrophiles, qui n'auraient aucune possibilité d'y pénétrer autrement.

5. Les acides lipophiles ont la tendance de s'accumuler dans le milieu liquidien de la cavité blastocytaire.

6. La membrane mucopolysidique acide du blastocyte freine la pénétration de substances alcalines, semble-t-il.

### *Riassunto*

Basandosi sui nostri reperti crediamo poter dire di aver ottenuto i seguenti indizi sul carattere della barriera embrionale:

1. Le barriere meccaniche che proteggono l'embrione dall'insinuarsi di sostanze estranee al suo corpo sono di natura lipoide.

2. L'efficienza di tali barriere cambia durante lo sviluppo del germe ed è ottimale prima dell'impiantazione del germe.

3. Al momento dell'impiantazione tutte le barriere sono soppresse di modo che ogni combinazione di sostanze estranee al corpo possono penetrare nello embrione.

4. Sostanze lipofili neutrali, instabili in un medio fisiologico e che si disintegrano al contatto con i prodotti cosiddetti «polari», dopo la loro disintegrazione in seguito al passaggio attraverso la barriera embrionale, sono in grado di introdurre delle sostanze idrofili nell'embrione che come tali non sarebbero in grado di entrarvi.

5. Acidi lipofili hanno la tendenza di accumularsi nel liquido della cavità dei blastocisti.

6. La membrana dei blastocisti, composta di mucopolisaccaridi di natura acida, agisce probabilmente impedendo la penetrazione di basi.

### *Summary*

Our investigations have yielded the following data on the nature of embryonal barriers:

1. The mechanical barriers which protect the embryo from the intrusion of foreign substances are lipid in character.

2. The effectiveness of the barriers changes during the development of the embryo and is optimal prior to the implantation of the embryo.

3. At the moment of implantation, all the barriers disappear, so that any foreign compound can enter the embryo.

4. Neutral lipophilic substances which are unstable in a physiological medium and break down into polar products are able, as a result of their degradation after passage through the embryonal barriers, to smuggle into the embryo hydrophilic compounds which would be unable to gain admittance if administered as such.

5. Lipophilic acids show a tendency to accumulate in the fluid of the blastocyst cavity.

6. The acid mucopolysaccharide membrane of the blastocyst possibly slows down the penetration of compounds with basic properties.

1. FAIGLE J. W., KEBERLE H., RIESS W. und SCHMID K.: *Experientia* (Basel) **18**, 389 (1962). – 2. KEBERLE H., LOUSTALOT P., MAILLER R. K., FAIGLE J. W. und SCHMID K.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **123**, 252 (1965). – 3. KEBERLE H., FAIGLE J. W., FRITZ H., KNÜSEL F., LOUSTALOT P. und SCHMID K.: *Biological Council Symposium on Embryopathic Activity of Drugs*, ed. by J. M. ROBSON, F. SULLIVAN and R. L. SMITH, S. 210. J. & A. Churchill, London 1965. – 4. Einheitsmembran nach DANIELI, beschrieben in: J. B. FINEAN: *Chemical ultrastructure in living tissues*, Charles C. Thomas, Springfield, Ill. 1961. – 5. BRAMBEL F. W. und HEMMINGS W. A.: *J. Physiol. (Lond.)* **108**, 177 (1949). – 6. LUTWAK-MANN C.: *J. Embryol. exp. Morph.* **2**, 1 (1954). – 7. ZIMMERMANN W., GOTSCHESKI G. H. M., FLAMM H. und KUNZ Ch.: *Develop. Biol.* **6**, 233 (1963).

Adresse des Autors: Dr. H. Keberle, CIBA Aktiengesellschaft, 4000 Basel 7.